

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許出願公告番号

特公平6-59304

(24)(44)公告日 平成6年(1994)8月10日

(51)Int.Cl.⁵

A61M 1/02

識別記号

311

庁内整理番号

9052-4C

FI

技術表示箇所

請求項の数1(全5頁)

(21)出願番号 特願昭63-153464
(22)出願日 昭和63年(1988)6月23日
(65)公開番号 特開平1-320064
(43)公開日 平成1年(1989)12月26日

(71)出願人 999999999
旭メディカル株式会社
東京都千代田区内幸町1丁目1番1号
(72)発明者 黒田 徹
大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内
(72)発明者 西村 隆雄
大分県大分市大字里2620番地 旭メディカル株式会社内
(74)代理人 弁理士 佐々木 俊哲
審査官 鈴木 寛治
(56)参考文献 特開 昭60-193468(JP,A)
特開 昭60-203267(JP,A)
特開 昭55-141247(JP,A)

(54)【発明の名称】 血液成分分離方法

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】血漿、赤血球、血小板は通過させるが白血球は通過させない白血球除去フィルターの上流側に採血バッグが接続され該白血球除去フィルターの下流側には少なくとも3つの血液成分分離用バッグが無菌的に接続されてなる血液成分分離用バッグ装置を用いて、前記採血バッグに採取された血液を前記白血球除去フィルターを通して予め白血球を除去した後に、遠心分離を行い比重差により分離された血液成分を前記血液成分分離用バッグに分取する方法。

【発明の詳細な説明】

(産業上の利用分野)

本発明は、血液をその成分毎に分離する為に用いるバッグと白血球除去フィルターとより成る分離方法に関するものである。

2

更に詳細に述べると、採血に用いられる抗凝固剤入りの採血バッグと、血漿、赤血球、血小板は通過させが白血球は通過させない白血球除去フィルターおよび少なくとも3つの血液成分分離用バッグを組み合わせる事により、無菌的に白血球除去濃厚赤血球、白血球除去濃縮血小板血漿、血漿の3種類の血液成分を同時に分離しようとする方法に関するものである。

(従来技術)

近年、医学、特に免疫学の進歩により、血液をその成分毎に分離し、治療の目的に適した血液成分のみを輸血する、いわゆる成分輸血が普及して来た。しかしながら成分輸血の際、輸血用の血液成分中に混入して来る白血球は患者にとっては他人の白血球であり、赤血球のABO型を合わせたとしても白血球の血液型は種類が多く、白血球の型を完全に一致させて輸血する事は困難である。

10

その為輸血された白血球の表面に存在する抗原に対し、患者の体内には抗体が産生され、繰り返し輸血された患者の場合、患者体内の抗白血球抗体と輸血血液中の白血球とが抗原抗体反応を起こし、発熱、蕁麻疹等の輸血副作用を引き起す事が多い。この為、輸血用血液成分中に含まれる白血球を除去する目的に使用される白血球除去フィルターが近年開発されて来ている。これらの白血球除去フィルターは全血または成分毎に分離された血液成分中の白血球を効率良く除去する事ができるので、輸血を受ける患者にとっては副作用が抑えられ、非常に喜ばれている。

(発明が解決しようとする問題点)

しかしながら、これらの白血球除去フィルターは血液バッグに接続する際、完全に無菌状態で接続する事が不可能である為、白血球を除去した血液製剤は製造後24時間以内に使用するが義務付けられている。白血球を除去していない血液製剤は、これよりずっと長い期間保存する事ができるので、無菌的に白血球を除去する方法があれば非常に有用である事は言うまでも無い。これを解決しようとする試みが米国特許第4596657号であるが、この方法は、採血バッグに少なくとも2つのバッグを接続し、採血バッグと一方のバッグとの間に白血球除去フィルターを組み込んだものであり、使用方法は、先ず採血バッグ中の全血を遠心分離し、その後、血小板を含む血漿は白血球除去フィルターが接続されていないバッグに移され、濃厚赤血球が白血球除去フィルターを通しもう一方のバッグに移される。この発明によれば白血球除去濃厚赤血球と白血球、血小板を含む血漿が得られる事になる。すなわち、濃厚赤血球中に含まれる白血球は除去できるが、血小板を含む血漿中に混入する白血球は除去できず、更には、白血球除去フィルターが血液バッグと一緒に遠心分離機により遠心される為白血球除去フィルターの容器やバッグの破損があり、安心して使えない為広く一般に普及するには至っていない。本発明者らは上記した様な従来技術の欠点を解決し、遠心分離操作を行なう際には、白血球除去フィルターを取り外す事ができ、すなわち、フィルター容器やバッグの破損の心配が無く、白血球を除去した濃厚赤血球、白血球を除去した濃縮血小板血漿、血漿等の3つの血液成分を無菌的に一気に分離できる方法を提供する事を目的に鋭意研究した結果、本発明を成すに至った。

(問題点を解決する為の手段)

すなわち本発明は、血漿、赤血球、血小板は通過させるが白血球は通過させない白血球除去フィルターの上流側に採血バッグが接続され該白血球除去フィルターの下流側には少なくとも3つの血液成分分離用バッグが無菌的に接続されてなる血液成分分離用バッグ装置を用いて、前記採血バッグに採取された血液を前記白血球除去フィルターを通して予め白血球を除去した後に、塩心分離を行い比重差により分離された血液成分を前記血液成分分離

用バッグに分取する方法である。

本発明で言う採血バッグとは、採血針を備える採血チューブを連結し、内部にはACD（アシッドサイトレート・デキストロース）、CPD（サイトレート・フォスフェート・デキストロース）等の抗凝固剤を封じたバッグであり、一般の採血に使用する採血バッグを使用する事ができる。

白血球除去フィルターとは、血液中の白血球は捕捉するが他の血液成分すなわち血漿、赤血球、血小板は捕捉しないフィルターであり、繊維状物、多孔性物質、粒子状物質等を充填したフィルターを用いる事ができる。フィルターの素材としては親水性材料、疎水性材料いずれも使用できるが、血小板の通過性の観点から親水性表面を持つ材料の方が好ましい。フィルター素材の形態としては、繊維状のものが白血球の捕捉効率が良く推奨できる。繊維状物質の形態としては、織布状、不織布状、綿状いずれも使用できるが、血液の通液性の観点から不織布状のものが特に好ましい結果を与える。

上記白血球除去フィルターは、例えば繊維状物質の集合体である不織布をフィルターの主要材料として容器に充填して用いるが、血小板の通過性をより良くする為の不織布表面を親水性高分子でコーティングしたり、抗血栓性材料でコートする事もできる。繊維の直径は、0.3 μm から20 μm 程度の物が用いられ、繊維の素材としては、合成繊維、再生セルロースの様な半合成繊維、綿の様な天然繊維、無機繊維等が用いられる。中でも合成繊維、例えばポリエチレンテレフタレート、ナイロン、ポリプロピレン、ポリアクリロニトリル等の繊維が好ましく用いられる。また、コート材としては、ヒドロキシエチルアクリレート、ヒドロキシエチルメタクリレート

の様にヒドロキシル基を有する高分子材料、ジエチルアミノエチル（メタ）アクリレートとヒドロキシエチル（メタ）アクリレートとの共重合体の様に塩基性含窒素官能基を有する高分子材料、ポリエーテルウレタン、アブコサン等を用いる事ができる。血液成分分離用バッグとは、全血を濃厚赤血球、濃縮血小板血漿、血漿等に分離する為に用いられる液密性のバッグであり、一般に用いられている血液成分分離用バッグを用いる事ができる。また、少なくとも濃縮血小板血漿を保存する為に用いられる血液成分分離用バッグは、グロー放電処理した軟質ポリ塩ビニールバッグ、通気量を大きくしたバッグ、ポリオレフィン系エラストマー製のバッグ、炭素数の多いフタル酸エステルを可塑剤として使用したバッグ等血小板の機能低下を起こし難い素材より成るバッグを使用する事が好ましい。

以下、図面を用いて本発明血液成分分離方法を更に詳細に説明する。

第1図は、本発明の基本構成を示す模式図であり、第2図は第1図の方法に赤血球保護液としての赤血球保存液入りバッグを配したものであり、第3図は第1図の方法

に白血球除去フィルターに滞留する血液を回収する為の生理的溶液入りバッグを配したものであり、第4図は、第2図と第3図を組み合わせたものである。

第1図において、供血者から採血された血液は採血バッグ1に導入され、採血バッグ内に存在する抗凝固剤と混合され、血液が凝固するのを防止される。採血された血液は白血球除去フィルター2に重力により、または、採血バッグを押える等の方法により送られ、白血球除去フィルター2を通過した血液は第1の血液成分分離用バッグ3に送られる。血液は白血球除去フィルター2を通過する事により白血球を除去されるので、第1の血液成分分離用バッグに送られた血液に含まれるのは赤血球、血小板および血漿である。この後、白血球除去フィルター2と第1の血液成分分離用バッグ3との間のチューブをアルミリングで圧着、あるいはヒートシーラーで熱融着した後切り離し、血液成分分離用バッグ3、4、5だけを遠心分離装置にかけ、遠心する。この操作により第1の血液成分分離用バッグ3中の血液は層分離し、上清に多血小板血漿、沈渣に白血球除去濃厚赤血球が得られる。

この後上清を第2の血液成分分離用バッグ4に移し、更にもう1度遠心分離操作を行なうと第2の血液成分分離用バッグ4中の多血小板血漿は上清に血漿、沈渣に白血球除去濃厚血小板血漿が得られる。

第2回目の遠心分離操作を行なう前に第1の血液成分分離用バッグ3は、前述した操作と同じ様にして切り離してしまい、残りの2つの血液成分分離用バッグ4、5だけ、第2回目の遠心分離操作にかけても良い。第2回目の遠心分離操作の後、上の血漿を第3の血液成分分離用バッグ5に移し、述した操作の様に血液成分分離用バッグ3、4、5を切り離せば第1のバッグ3に白血球除去濃厚赤血球、第2のバッグ4に白血球除去濃厚血小板血漿、第3のバッグ5に血漿がそれぞれ無菌的に得られる(説明中、血液成分を1つのバッグから別のバッグへ移す際等チューブのクランプ操作は省略した。以下同じ)。遠心分離操作の際には血液成分分離用バッグ3、4、5のみを遠心すれば良いので白血球除去フィルター2の容器が破損したり血液成分分離用バッグ3、4、5が白血球除去フィルター2の容器に押し潰されて破れる様な事が無く、安全である。

第2図は第1図に赤血球保存液入りのバッグ6を取り付けたものであるが、赤血球保存液は、第1回目の遠心分離操作を行ない、上清の多血小板血漿を第2の血液成分分離用バッグ4に移した後、第1の血液成分分離用バッグ3内に残る濃厚赤血球に加えられる。赤血球保存液を濃厚赤血球に加える事で赤血球の保存日数を更に長くしても輸血に用いる事が可能になる。赤血球保存液の例としては、アデニン、マンニトール、ソルビトール、グアノシン等を1種類以上含む生理的溶液が挙げられる。

第3図は、第1図に生理的溶液入りのバッグ7を取り付

けたものであるが、生理的溶液は、血液を採血バッグ1から白血球除去フィルター2に流し終えた後、白血球除去フィルター2に送られ、白血球除去フィルター2の中に少量残存する血液を第1の血液成分分離用バッグ3に回収する為に用いられる。この操作により、赤血球、血小板、血漿の回収率が高くなる。生理的溶液は生理食塩水、リンゲル液等血液成分に対してダメージを与え難く、生体にとって安全なものであれば全て使える。

第4図、第2図と第3図を組み合わせたものであり、使用方法も前述の通りである。

また、血漿の回収率を高くする為に、第1の血液成分分離用バッグ3を更に強く遠心し、上清の血漿を第3の血液成分分離用バッグ5に移す為のバイパス回路を血液成分分離用バッグ3、5間に設ける事も本発明に含まれる。更に、第1図から第4図までの例では血液成分分離用バッグ3、4、5が直列の位置関係で示されているが、並列の位置関係にしても血液成分を分離する操作上特別な問題は無く、この様な接続の仕方も本発明に含まれる。

また、先に述べた血液成分分離操作では、濃縮血小板血漿を得る際に遠心分離を行ない、沈渣として血小板を得ているが、第2回目の遠心分離をせずに第1回目の遠心分離操作後第1の血液成分分離用バッグ3から上清のうち血小板濃度の薄い部分を血液成分分離用バッグ5にした後、血小板濃度の濃い部分を血液成分分離用バッグ4に移す方法もとれる。この操作の場合は、血液成分分離用バッグ3、4、5は並列の位置関係である事が好ましい。

(発明の効果)

以上述べた様に、本発明を用いる事により、全血から1つの血液成分分離方法を用いるだけで、完全に無菌的に、白血球を除去した濃厚赤血球、白血球を除去した濃縮血小板血漿、血漿の3種類の血液成分を同時に得る事ができる様になった、更に遠心分離操作を行なう際、白血球除去フィルターを取り外してしまう事が可能な為、遠心時に白血球除去フィルターが破損したり、血液成分分離用バッグが破損される事が無い為非常に安全な血液成分分離方法とする事ができた。また、白血球を除去した血液製剤が得られる為、微小凝集物の発生も少なく、溶血等も少なくなった。以下、実施例より本発明をより詳細に説明する。

(実施例)

実施例1

血液成分分離方法として第1図に示すものを用いた。白血球除去フィルター2としては、平均直径1.8 μ mのポリエチレンテレフタレート製不織布を67mm×67mmの正方形に切断したものを重ねて、第5図に示すようにカラム内にセッした後、後述するコポリマーをコートしたものをを用いた。不織布フィルター層11は、2枚の角型の枠体9、9'を組み合わせてできているカラ

ム本体8の中にセットされており、その周辺部は圧着されている。10、10'はカラムの側に設けられた突起であり、不織布フィルターの中央部を部分的に支持している。12は処理血液入口、13は分離血液出口である。不織布フィルターの有効断面積は $60\text{mm} \times 60\text{mm} = 3600\text{mm}^2$ であり、厚みは7mm、重量は4.2gである。

コポリマーの合成及び不織布へのコーティングは以下の様に行なった。

2-ヒドロキシエチルメタアクリレート（以下HENAと略称する）とジエチルアミノエチルメタアクリレート（以下DEAMAと略称する）のコポリマーを通常の溶液ラジカル重合によって合成した。重合条件としては、エタノール中のモノマー濃度1モル/ℓで開始剤としてアゾイソブチロニトリル（AIBN）1/200モル/ℓ存在下、60℃で8時間重合反応を行った。

上記ポリマーを1g/dℓの濃度になる様にエタノールに溶解したものを前述の不織布フィルターに充填した後、余分なポリマーを乾燥窒素を送り込む事より除去し、更にそのまま窒素を送り続け、乾燥した。このフィルターを更に16時間真空乾燥した後、白血球除去フィルター2とした。コーティングしたHEMAとDEAMAとのコポリマー中のDEAMA単位の含量は5モル%とした。

採血バッグ1はCPD入りの採血バッグ、血液成分分離用バッグ3、4、5は市販のものをを用いた。

供血者からの血液400gを採血バッグ1に導入した後、重力により白血球除去フィルター2を経由して、第1の血液成分分離用バッグ3に流した。血液全てを流し終えるまでの時間は20分であった。

この後、ヒートシーラーを用いて白血球除去フィルター2と第1の血液成分分離用バッグ3との間のチューブを2ヶ所溶着し、その間をはさみで切断し、血液成分分離用バッグ3、4、5を22℃の遠心分離機にセットし、300gで18分遠心した。この後遠心分離機より血液成分分離用バッグ3、4、5を取り出し、第1の血液成分分離用バッグ3を押えつながら上清を第2の血液成分分離用バッグ4に移した。この後もう1度22℃の遠心分離機にセットし、3000gで6分遠心した。その後遠心分離機から血液成分分離用バッグ3、4、5を取り出し、第2の血液成分分離用バッグ4の20mℓの血漿を残す様にして上清を第3の血液成分分離用バッグ5に移した。以上の様にして得られた各血液成分分離用バッグ中の成分を実験に供した血液と比較して分析したところ、第1の血液成分分離用バッグ3中に含まれる濃厚赤血球中には実験に供した赤血球の91%が回収され、

混入した白血球は実験に供した白血球の0.8%であった。第2の血液成分分離用バッグ4中に含まれる濃縮血小板血漿中には実験に供した血小板の62%が回収され、混入した白血球は実験に供した白血球の0.9%であった。第3の血液成分分離用バッグ5中には164mℓの血漿が回収できた。操作中血液成分分離用バッグ、回路等の破損は無かった。

実施例2

血液成分分離方法として、第3図に示すものを用いた。生理的溶液を含むバッグ7としては、生理食塩液30mℓを含むポリ塩化ビニル製バッグを用いた。これ以外の構成部品は全て実施例1と同じにした。

操作方法も、採血バッグ1中の血液を全て流し終わった後、生理的溶液を含むバッグ7中の生理食塩液を白血球除去フィルター2に流した事以外は、実施例1と同様に操作を行なった。

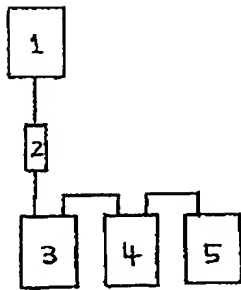
得られた各血液成分分離用バッグ中の成分を実施例1と同様に分析したところ、第1の血液成分分離用バッグ3中に含まれる濃厚赤血球中には実験に供した赤血球の96%が回収され、混入した白血球は実験に供した白血球の0.8%であった。第2の血液成分分離用バッグ4中に含まれる濃縮血小板血漿中には実験に供した血小板の66%が回収され、混入した白血球は実験に供した白血球の0.9%であった。第3の血液成分分離用バッグ5中には178mℓの血漿が回収できた。操作中血液成分分離用バッグ、回路等の破損は無く、実施例1に比べ、赤血球、血小板、血漿の回収率が高くなった。

【図面の簡単な説明】

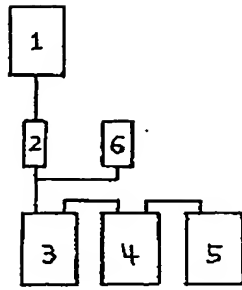
第1図は本発明血液成分分離方法の基本構成を示す模式図であり、第2図は第1図の方法に赤血球保存液入りバッグを配した方法の模式図であり、第3図は第1図の方法に生理的溶液入りバッグを配した方法の模式図であり、第4図は第2図と第3図を組み合わせた方法の模式図である。第5図は実施例で用いた白血球除去フィルターの構成を示す断面模式図である。

- 1……採血バッグ
- 2……白血球除去フィルター
- 3、4、5……血液成分分離用バッグ
- 6……赤血球保存液入りバッグ
- 7……生理的溶液入りバッグ
- 8……カラム本体
- 9、9'……枠体
- 10、10'……突起
- 11……不織布フィルター層
- 12……血液入口
- 13……血液出口

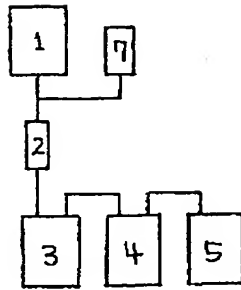
【第1図】



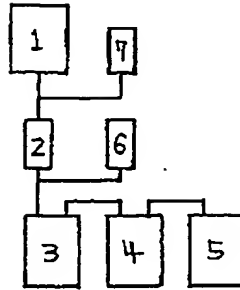
【第2図】



【第3図】



【第4図】



【第5図】

